

Prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman contoh air dan ikan untuk pemeriksaan penyakit





© BSN 2016

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN
Email: dokinfo@bsn.go.id
www.bsn.go.id

Diterbitkan di Jakarta

Daftar Isi

| | |
|---|-----|
| Prakata | ii |
| Pendahuluan..... | iii |
| 1 Ruang Lingkup..... | 1 |
| 2 Istilah dan definisi | 1 |
| 3 Prinsip umum..... | 2 |
| 4 Peralatan | 2 |
| 5 Bahan | 2 |
| 6 Teknik pengambilan contoh uji | 3 |
| 7 Teknik penanganan dan pengiriman contoh uji | 4 |
| 8 Kelayakan contoh untuk pemeriksaan..... | 5 |
| Tabel 1 – Perhitungan jumlah contoh uji | 3 |
| Tabel 2 - Kelayakan kondisi contoh uji dan jenis pemeriksaan | 5 |
| Lampiran A (Normatif) Formula reagen fiksatif dan prosedur pembuatan..... | 7 |
| Bibliografi | 8 |

Prakata

Standar prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman contoh air dan ikan untuk pemeriksaan penyakit ini menetapkan prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman contoh air dan ikan untuk pemeriksaan penyakit, baik untuk kegiatan *monitoring*, pemeriksaan rutin maupun surveilan, sebagai upaya deteksi dini atau pencegahan penyebaran penyakit hama dan penyakit ikan/hama penyakit ikan karantina (HPI/HPIK)

Standar ini merupakan revisi dari 7306:2009 tentang Prosedur pengambilan dan pengiriman contoh ikan untuk pemeriksaan penyakit ikan. Perubahan pada rancangan standar ini dibandingkan dengan SNI sebelumnya meliputi judul, ruang lingkup, dan prosedur.

Standar ini dirumuskan oleh Komite Teknis 65-07 Perikanan Budidaya dan telah pada konsensus pada tanggal 5 Agustus 2015 di Tangerang Selatan, yang dihadiri oleh anggota Komite Teknis 65-07, wakil-wakil dari pemerintah, produsen, konsumen, lembaga penelitian/pakar dan instansi terkait lainnya.

Standar ini telah melalui jajak pendapat pada tanggal 30 September 2015 sampai dengan 29 November 2015 dengan hasil akhir disetujui menjadi RASNI.



Pendahuluan

Peraturan yang dijadikan rujukan di dalam penyusunan standar ini adalah :

1. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia No 28 tahun 2004 tentang Keamanan, Mutu dan Gizi Pangan;
2. Peraturan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. PER.19/Men/2010 tentang Pengendalian Sistem Jaminan Mutu dan Keamanan Hasil Pangan;
3. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.01/Men/2002 tentang Sistem Manajemen Mutu Terpadu Hasil Perikanan;
4. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI. No.Kep.06/Men/2002 tentang Persyaratan dan Tata Cara Pemeriksaan Mutu Hasil Perikanan yang Masuk ke wilayah Republik Indonesia;
5. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. Kep.21/Men/2004 tentang Sistem Pengawasan dan Pengendalian Mutu Hasil Perikanan untuk Pasar Uni Eropa;
6. Keputusan Menteri Kelautan dan Perikanan RI No. 26/Kepmen-KP/2013 tentang Penetapan Jenis-Jenis Hama dan Penyakit Ikan Karantina (HPIK), Golongan, Media Pembawa dan Penyebarannya.



Prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman contoh air dan ikan untuk pemeriksaan penyakit

1 Ruang Lingkup

Standar ini menetapkan prosedur pengambilan, penanganan dan pengiriman contoh air dan ikan untuk pemeriksaan penyakit, baik untuk kegiatan *monitoring*, pemeriksaan rutin maupun surveilan.

2 Istilah dan definisi

Untuk tujuan penggunaan dokumen ini, istilah dan definisi berikut digunakan

2.1

antikoagulan

zat yang dapat mencegah penggumpalan darah

2.2

botol contoh

wadah untuk menampung contoh uji

2.3

gejala ikan sakit

Bereng ke permukaan, lemah, berenang terbalik

2.4

Ikan

ikan bersirip (finfish) & udang

2.5

ikan besar

ikan yang sudah dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis atau memiliki panjang total lebih dari 3 cm

2.6

ikan kecil

ikan yang tidak dapat dibedakan organ dalamnya secara makroskopis atau memiliki panjang total maksimal 3 cm

2.7

larutan fiksatif

larutan yang digunakan untuk mempertahankan jaringan tanpa menyebabkan perubahan struktur dari jaringan itu sendiri sehingga setiap komponen di dalam sel berada pada kondisi yang sama seperti ketika dalam keadaan hidup

2.8

patogen

mikroorganisme penyebab penyakit

2.9

penyakit ikan

infeksi klinis atau non klinis yang disebabkan oleh satu atau lebih agensia penyebab penyakit

2.10**populasi**

kumpulan individu dari satu spesies

2.11**prevalensi**

persentase jumlah ikan yang terserang penyakit dari jumlah total ikan yang diperiksa

2.15**surveilan**

kegiatan penyidikan yang dilaksanakan secara sistematis pada suatu populasi ikan untuk mendeteksi terjadinya kasus penyakit yang diperlukan untuk pengendalian penyakit tersebut

2.16***water sampler***

alat untuk mengambil contoh air

3 Prinsip umum**3.1 Pengambilan contoh uji**

Ambil contoh uji secara acak dengan pendekatan statistika.

3.2 Penanganan dan pengiriman contoh uji

Lakukan penanganan dan pengiriman dengan cepat dan tidak mempengaruhi kondisi contoh uji sehingga sesuai untuk pemeriksaan.

4 Peralatan

- a) alat bedah;
- b) alat tulis;
- c) aerator;
- d) botol contoh steril;
- e) *cool box*;
- f) ember;
- g) gayung;
- h) *scoop net*;
- i) *water sampler*.

5 Bahan

- a) antikoagulan;
- b) alat suntik (*syringe*) *disposable*;
- c) es batu;
- d) gas oksigen;
- e) kardus dan/atau *styrofoam*;
- f) kantong plastik;
- g) karet pengikat;
- h) kertas label;

- i) larutan fiksatif;
- j) sarung tangan.

CATATAN Formula reagen fiksatif dan prosedur pembuatan diuraikan dalam Lampiran A.

6 Teknik pengambilan contoh uji

6.1 Air

- a. siapkan botol contoh steril bertutup volume minimal 100 ml;
- b. masukkan botol contoh ke dalam air 20 cm dari permukaan dalam kondisi masih tertutup;
- c. buka tutup botol di dalam air dan masukkan air maksimal $\frac{3}{4}$ bagian botol;
- d. tutup kembali botol dalam air, kemudian angkat dan pastikan botol tertutup rapat;
- e. beri label/tanda pada botol contoh sesuai tempat pengambilan contoh; apabila diperlukan air pada kedalaman tertentu, bisa menggunakan *water sampler* kemudian pindahkan air secara aseptis ke dalam botol contoh steril dan segera tutup kembali.

6.2 Ikan

- a. siapkan kantong plastik berisi air media;
- b. ambil ikan yang menunjukkan gejala sakit seperti :
 - berenang ke permukaan, lemah;
 - berenang terbalik kemudian mati;
 - menunjukkan gejala abnormal lainnya;
- c. ambil ikan menggunakan scoop net dengan jumlah sesuai Tabel 1 apabila tidak ada ikan yang menunjukkan gejala sakit; ;
- d. masukkan ikan yang masih hidup ke dalam kantong plastik berisi air;
- e. masukkan contoh ikan mati dalam kantong plastik secara individu untuk ikan berukuran besar sedangkan pada ikan berukuran kecil tidak perlu dilakukan secara individu;
- f. ambil organ target sesuai jenis penyakit dan komoditasnya untuk tujuan pemeriksaan penyakit dan lakukan preparasi contoh sesuai dengan metode uji yang akan digunakan.

CATATAN 1 Ikan yang dijadikan contoh adalah ikan yang mati maksimal 30 menit; direkomendasikan lebih cepat lebih baik.

Tabel 1 – Perhitungan jumlah contoh uji

| Populasi | Dugaan prevalensi | | | | | | |
|----------|-------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | 2% | 5% | 10% | 20% | 30% | 40% | 50% |
| 50 | 46 | 29 | 20 | 10 | 7 | 5 | 2 |
| 100 | 76 | 43 | 23 | 11 | 9 | 7 | 6 |
| 250 | 110 | 49 | 25 | 10 | 9 | 8 | 7 |
| 500 | 127 | 54 | 26 | 10 | 9 | 8 | 7 |
| 1000 | 136 | 55 | 27 | 10 | 9 | 9 | 8 |
| 2500 | 142 | 56 | 27 | 10 | 9 | 9 | 8 |
| 5000 | 145 | 57 | 27 | 10 | 9 | 9 | 8 |
| 10.000 | 146 | 57 | 27 | 10 | 9 | 9 | 8 |
| 100.000 | 147 | 57 | 27 | 10 | 9 | 9 | 8 |
| >100.000 | 150 | 60 | 30 | 10 | 9 | 9 | 8 |

Sumber: Amos (1985) dalam *Office International des Epizooties* (OIE) 2003

7 Teknik penanganan dan pengiriman contoh uji

7.1 air

- a) masukkan botol yang telah berisi contoh air ke dalam kantong plastik;
- b) masukkan ke dalam wadah misalnya *styrofoam* atau *cool box* dan beri es batu;
- c) pastikan contoh air tidak langsung kontak dengan es (agar tidak terkontaminasi air).

CATATAN Contoh air layak dianalisis bila pengiriman kurang dari 12 jam.

7.2 ikan dalam kondisi hidup

- a) tambahkan oksigen dengan perbandingan antara air dan oksigen 1 : 10; tutup kantong plastik dengan cara diikat;
- b) masukkan kantong ke dalam *styrofoam* atau *cool box* dan beri es batu;
- c) masukkan es yang dibungkus plastik atau koran ke dalam *styrofoam* tersebut.

7.3 ikan dalam kondisi mati

- a) masukkan kantong plastik yang telah berisi contoh uji ke dalam *styrofoam* atau *cool box* dan beri es batu;
- b) pastikan contoh tidak langsung kontak dengan es agar tidak terkontaminasi air.

CATATAN Ikan yang dijadikan contoh uji adalah ikan yang mati maksimal 30 menit; direkomendasikan lebih cepat lebih baik

7.4 Contoh uji difiksasi

7.4.1 Ikan

7.4.1.1 Ikan kecil

- a) masukkan contoh uji ke dalam botol contoh yang berisi larutan fiksatif 1:10;
- b) beri label/tanda pada botol contoh sesuai tempat pengambilan contoh uji.

7.4.1.2 Ikan besar

- a) penyiapan contoh ikan sesuai dengan SNI 7907 pada pasal 6.2 ;
- b) pembedahan rongga perut sesuai dengan SNI 7907 pada pasal 6.5.a dan 6.5.b;
- c) ambil organ abnormal yang diperlukan;
- d) potong organ menjadi beberapa bagian seukuran 0,5 cm apabila ukuran organ masih cukup besar;
- e) masukkan ke dalam botol contoh yang berisi larutan fiksatif dengan perbandingan contoh uji dan larutan fiksatif 1:10;
- f) beri label/tanda pada botol contoh sesuai tempat pengambilan contoh.

CATATAN 1 Proses fiksasi harus dilakukan pada saat ikan masih dalam keadaan hidup untuk menghindari kerusakan sel karena kondisi *post mortem*.

CATATAN 2 Larutan fiksatif yang digunakan untuk pemeriksaan secara histopatologis adalah larutan formalin 10 % dengan bufer fosfat untuk contoh uji.

7.4.2 Udang

7.4.2.1 Larva dan pascalarva

- rendam larva dan pascalarva dalam larutan Davidson perbandingan volume spesimen : fiksatif = 1 : 10 selama 12 jam sampai dengan 24 jam;
- pindahkan ke dalam alkohol 50 % untuk penyimpanan atau pengiriman dalam wadah gelas atau plastik.

7.4.2.2 Tokolan, juvenil dan udang dewasa

- buka atau potong karapas pada contoh uji tokolan dengan cara membujur (memanjang) dan fiksasi selama 12 jam - 48 jam;
- injeksi dengan larutan *Davidson* pada bagian hepatopankreas dan beberapa titik pada segmen abdominal untuk juvenil dan udang dewasa;
- masukkan contoh uji ke dalam alkohol 50 % atau 70 % untuk penyimpanan atau pengiriman.

7.5 Contoh beku

- masukkan contoh uji beku ke dalam kantong plastik;
- tutup kantong plastik dengan cara diikat;
- masukkan ke dalam *styrofoam* atau *cool box* dan beri es batu;
- pastikan contoh tidak langsung kontak dengan es agar tidak terkontaminasi air.

CATATAN 1 Teknik penanganan dan pengiriman contoh uji disesuaikan dengan jenis pemeriksaan

CATATAN 2 Lengkapi setiap contoh uji yang dikirim dengan data kondisi contoh uji saat diambil, gejala klinis, lokasi, tanggal, jam, larutan fiksatif yang digunakan.

8 Kelayakan contoh untuk pemeriksaan

Kondisi contoh uji yang disiapkan bergantung pada tujuan dan jenis pemeriksaan yang dilakukan sesuai Tabel 2.;

Tabel 2 - Kelayakan kondisi contoh uji dan jenis pemeriksaan

| Kondisi contoh uji | Metode diagnosis | | | | | |
|--|---------------------------------|--------------|------------------|------------------|-------------|-------------|
| | Parasitologi | Mikrobiologi | Histologi | Imuno histokimia | Serologi | Molekuler |
| Hidup | Layak | Layak | Layak | Layak | Layak | Layak |
| Mati, simpan dingin (4 – 10 °C) kurang dari 12 jam | Tidak layak | Layak | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak | Layak |
| Difiksasi bufer formalin | Beberapa parasit sulit dikenali | Tidak layak | Layak untuk ikan | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak |
| Difiksasi alkohol | Beberapa | Tidak | Tidak | Tidak | Tidak | Layak |

| Kondisi contoh uji | Metode diagnosis | | | | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------|-------------------|------------------|-------------|-------------|
| | Parasitologi | Mikrobiologi | Histologi | Imuno histokimia | Serologi | Molekuler |
| | parasit sulit dikenali | layak | layak | layak | layak | |
| Difiksasi <i>Davidson</i> | Beberapa parasit sulit dikenali | Tidak layak | Layak untuk udang | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak |
| Mati, kurang dari 12 jam | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak | Layak |
| Mati, simpan dalam <i>freezer</i> | Tidak layak | Layak | Tidak layak | Tidak layak | Tidak layak | Layak |



Lampiran A (Normatif)
Formula reagen fiksatif dan prosedur pembuatan

A.1 Fiksatif *Davidson*, per liter

| | |
|-------------------------------------|--------|
| etanol absolut | 330 ml |
| formalin (37 % <i>formaldehid</i>) | 220 ml |
| asam asetat glasial | 115 ml |
| air (akuades) | 335 ml |

Cara membuat :

campur etanol, formalin dan asam asetat sesuai takaran kemudian tambahkan akuades hingga mencapai satu liter.

A.2 *Buffered neutral formaline solution*, per liter

| | |
|---|--------|
| formalin 37 % | 100 ml |
| akuades | 900 ml |
| <i>sodium phosphate monobasic</i> | 40 g |
| <i>sodium phosphate dibasic (anhydrous)</i> | 6.5 g |
| <i>sodium chloride</i> | 9.0 g |

Cara membuat :

Larutkan *sodium phosphate monobasic*, *sodium phosphate dibasic (anhydrous)* dan *sodium chloride* ke dalam akuades 800 ml kemudian masukkan formalin dan tambahkan akuades sampai mencapai 1000 ml.

A.3. Alkohol 70 %, per liter

| | |
|----------------|--------|
| akuades | 300 ml |
| etanol absolut | 700 ml |

Cara membuat :

Campur semua bahan kemudian larutkan hingga homogen.

Bibliografi

- [1] Lightner, D. V. 1996. *A Handbook of Pathology and Diagnostic Procedures for Diseases of Penaeid Shrimp*. The World Aquaculture Society.
- [2] SNI 7907 : 2013, Nekropsi ikan bersirip untuk tujuan diagnosis penyakit.

